

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-123739

(43)公開日 平成6年(1994)5月6日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 33/531	B	8310-2 J		
21/64	Z	9115-2 J		
33/543	L	9217-2 J		

審査請求 未請求 請求項の数 2(全 4 頁)

(21)出願番号	特願平4-272754	(71)出願人	000002853 ダイキン工業株式会社 大阪府大阪市北区中崎西2丁目4番12号 梅田センタービル
(22)出願日	平成4年(1992)10月12日	(72)発明者	長谷川 雅典 滋賀県草津市岡本町字大谷1000番地の2 ダイキン工業株式会社滋賀製作所内
		(72)発明者	山下 かおり 大阪府大阪市北区中崎西2丁目4番12号 梅田センタービル ダイキン工業株式会社 内
		(74)代理人	弁理士 津川 友士

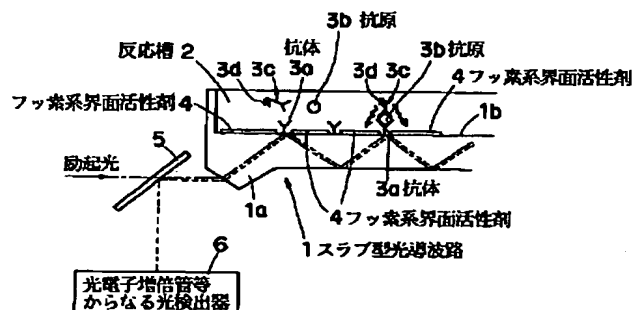
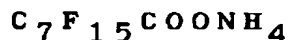
(54)【発明の名称】 免疫アッセイ用ブロッキング剤および免疫測定装置

(57)【要約】

【目的】 免疫測定に当って、非特異吸着を低減するとともに、大きい測定信号を得る。

【構成】 スラブ型光導波路1の抗体3aが固定化された面1bに化1で示されるフッ素系界面活性剤4を吸着させてなる。

【化1】



【特許請求の範囲】

【請求項1】 フッ素系界面活性剤を含有してなることを特徴とする免疫アッセイ用ブロッキング剤。

【請求項2】 スラブ型光導波路(1)の少なくとも一面に臨む反応槽(2)を一体に有してあり、上記少なくとも一面に被検溶液中の抗原(3b)または抗体を受容し得る物質(3a)を固定化してあるとともに、上記物質(3a)が固定化されていない領域にフッ素系界面活性剤を含有する免疫アッセイ用ブロッキング剤(4)を吸着させてあることを特徴とする免疫測定装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】この発明は免疫アッセイ用ブロッキング剤および免疫測定装置に関し、さらに詳細に言えば、被検溶液中の抗原または抗体の非特異吸着を大幅に低減できる免疫アッセイ用ブロッキング剤およびこの免疫アッセイ用ブロッキング剤を吸着させてなる免疫測定装置に関する。

【0002】

【従来の技術】従来から、例えば、予め抗体を固定化しておいて被検溶液を注入することにより被検溶液中の抗原を上記固定化された抗体に受容させ、さらに、標識蛍光体等で標識された標識抗体を含む試薬を注入することにより標識抗体を上記受容された抗原に受容させ、外部から励起光を導入することにより上記受容された標識抗体の標識蛍光体を励起し、標識蛍光体が放射する蛍光強度を計測することにより免疫反応の有無、免疫反応の程度等を測定する蛍光免疫アッセイ方法が知られている。

【0003】また、このような蛍光免疫アッセイ方法を実施するための免疫測定装置として、スラブ型光導波路を採用し、スラブ型光導波路の表面に抗体または抗原を固定化しておき、スラブ型光導波路に励起光を導入して全反射させながら伝播させる際に生じるエバネッセント波成分によりスラブ型光導波路近傍に拘束されている標識蛍光体を励起する装置が知られている(スイス国特許出願明細書第2799/85-2号および特開昭63-273042号公報参照)。

【0004】また、上記の蛍光免疫アッセイ方法を実施するに当たって、被検溶液中の抗原または抗体が抗原抗体反応によることなくスラブ型光導波路の表面等に吸着してしまうこと(非特異吸着)が知られており、非特異吸着に起因して測定感度が低下してしまうことを防止するために、アルブミン、ゼラチン、カゼイン等のタンパク質を免疫アッセイ用ブロッキング剤として使用すること、またはポリビニルアルコール(以下、PVAと略称する)を免疫アッセイ用ブロッキング剤として使用すること(特開平4-19561号公報参照)が知られている。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】上記アルブミン、ゼラ

チン、カゼイン等のタンパク質を免疫アッセイ用ブロッキング剤として使用した場合には、スラブ型光導波路の表面等への非特異吸着を排除することができるのであるが、免疫アッセイ用ブロッキング剤自体への非特異吸着が生じてしまい、測定感度を余り向上できない。

【0006】また、上記PVAを免疫アッセイ用ブロッキング剤として使用した場合には、スラブ型光導波路の表面等への非特異吸着を排除できるとともに、免疫アッセイ用ブロッキング剤自体への非特異吸着をも十分に排除できることを確認したが、蛍光免疫測定信号を余り大きくできないことをも確認した。このように、蛍光免疫測定信号を余り大きくできないことに起因して迷光蛍光等の影響を受けやすくなり、ひいては蛍光免疫測定感度を余り高めることができないのであるから、非特異吸着排除効果が高く、しかも蛍光免疫測定信号をも高くできる免疫アッセイ用ブロッキング剤が強く要望されていたのである。尚、蛍光を用いる免疫アッセイのみならず、吸光・燐光を用いる免疫アッセイにおいても同様の不都合があり、非特異吸着排除効果が高く、しかも免疫測定信号をも高くできる免疫アッセイ用ブロッキング剤が強く要望されていたのである。

【0007】

【発明の目的】この発明は上記の問題点に鑑みてなされたものであり、非特異吸着排除効果が高く、しかも免疫測定信号をも高くできる免疫アッセイ用ブロッキング剤およびこの免疫アッセイ用ブロッキング剤を吸着させてなる免疫測定装置を提供することを目的としている。

【0008】

【課題を解決するための手段】上記の目的を達成するための、請求項1の免疫アッセイ用ブロッキング剤は、フッ素系界面活性剤を含有してなるものである。請求項2の免疫測定装置は、スラブ型光導波路の少なくとも一面に臨む反応槽を一体に有してあり、上記少なくとも一面に被検溶液中の抗原または抗体を受容し得る物質を固定化してあるとともに、上記物質が固定化されていない領域にフッ素系界面活性剤を含有する免疫アッセイ用ブロッキング剤を吸着させてある。

【0009】

【作用】請求項1の免疫アッセイ用ブロッキング剤であれば、抗体等のタンパク質に対して不活性なフッ素系界面活性剤を非特異吸着排除対象面等に吸着させておくことにより、十分な非特異吸着排除効果を達成できるとともに、免疫測定信号を大きくできる。したがって、非特異吸着に起因する測定誤差を十分に小さくできるとともに、免疫測定信号に対する迷光等の割合を十分に小さくでき、ひいては高感度の免疫測定を達成できる。

【0010】請求項2の免疫測定装置であれば、スラブ型光導波路の少なくとも一面に固定化された物質(例えば、抗体または抗原)に被検溶液中の抗原または抗体が受容され、受容された抗原または抗体に試薬中の標識物

質が受容される場合に、スラブ型光導波路の上記少なくとも一面に吸着された、フッ素系界面活性剤を含有する免疫アッセイ用ブロッキング剤により被検溶液中の抗原または抗体の非特異吸着、標識物質の非特異吸着が十分に排除される。したがって、スラブ型光導波路に測定光を全反射する状態で導入して、スラブ型光導波路の表面近傍に拘束されている標識物質に起因する信号光を同様に全反射させながら導出する場合に、非特異吸着に起因してスラブ型光導波路の表面近傍に拘束される標識物質の量を十分に低減でき、非特異吸着に起因する測定誤差を十分に小さくできる。また、フッ素系界面活性剤を含有する免疫アッセイ用ブロッキング剤がスラブ型光導波路の表面に吸着されているのであるから、免疫測定信号光強度を大きくでき、免疫測定信号光に対する迷光等の割合を十分に小さくでき、ひいては高感度の免疫測定を達成できる。

【0011】

【実施例】以下、実施例を示す添付図面によって詳細に説明する。図1はこの発明の免疫測定装置の一実施例を示す概略縦断面図であり、少なくとも一方の端部にプリズム1aを有するスラブ型光導波路1の一面1bを底面とする反応槽2が一体に形成されている。そして、上記一面1bには抗体3aが固定化されているとともに、抗体3aが固定化されている局部領域を除く残部領域に免疫アッセイ用ブロッキング剤としてのフッ素系界面活性剤4が吸着されている。尚、5はダイクロイックミラー、6は光電子増倍管等からなる光検出器である。

【0012】上記の構成の免疫測定装置を用いて蛍光免疫測定を行なう場合の作用は次のとおりである。まず、図示しない光源からの測定光をダイクロイックミラー5を通してプリズム1aの入射面に導き、プリズム1aにより屈折させることにより全反射光としてスラブ型光導波路1を伝播させる。

【0013】次いで、反応槽2に被検溶液を注入することにより、被検溶液中の抗原3bを上記固定化されている抗体3aに受容させる。そして、被検溶液を排出した後、標識蛍光体3dで標識された標識抗体3cを含む試薬を注入して、標識抗体3cを上記受容された抗原3bに受容させる。これらの場合において、被検溶液中の抗原3b、試薬中の標識抗体3cの非特異吸着がフッ素系界面活性剤4により効果的に排除されているのであるから、スラブ型光導波路1の表面近傍に拘束される、非特異吸着に起因する標識抗体3cの量を十分に低減できる。即ち、スラブ型光導波路1の表面近傍に拘束される標識抗体3cの量は、被検溶液の抗原物質の量に高精度に比例することになる。

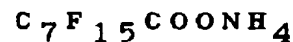
【0014】また、スラブ型光導波路1を全反射しながら伝播する測定光に起因してエバネッセント波成分が生じ、スラブ型光導波路1の表面近傍に拘束される標識抗体3cの標識蛍光体3dを励起することになる。この励

起された標識蛍光体3dは無方向性の蛍光を放射するのであるが、放射される蛍光の一部はスラブ型光導波路1に導入され、全反射しながら伝播してプリズム1aを通して出射し、ダイクロイックミラー5により反射されて光検出器6に入射する。したがって、光検出器6から出力される電気信号に基づいて免疫反応の有無、免疫反応の程度を検出できる。

【0015】さらに具体的に説明する。スラブ型光導波路1の表面に抗体3aを固定化した後、フッ素系界面活性剤4として化1で示すものを用い、0.05%水溶液として反応槽2に注入することによりスラブ型光導波路1の表面に吸着させた。

【0016】

【化1】



【0017】上記のようにしてフッ素系界面活性剤4を吸着させ、リン酸緩衝液(pH7.4)で洗浄した後、抗原の濃度が0mg/mlの被検溶液を用いて図1の免疫測定装置により測定信号を得たところ、1.1(arbitrary unit)であった。カゼインを免疫アッセイ用ブロッキング剤として同様の条件で吸着させ、同様の被検溶液を用いて図1の免疫測定装置により測定信号を得たところ、2.9(arbitrary unit)であった。

【0018】したがって、化1で示すフッ素系界面活性剤4を用いることにより非特異吸着を大幅に低減できたことが分る。また、鹸化度88%のPVA(クラレ株式会社製)を0.5%リン酸緩衝液溶液として反応槽2に注入することによりスラブ型光導波路1の表面に吸着させ、抗原の濃度が0mg/mlの被検溶液を用いて図1の免疫測定装置により測定信号を得たところ、1.0(arbitrary unit)であった。これに対して、化1で示すフッ素系界面活性剤4を0.05%リン酸緩衝液溶液として同様にスラブ型光導波路1に吸着させて同一条件で測定信号を得たところ、1.9(arbitrary unit)であった。即ち、非特異吸着の阻止効果は、化1で示すフッ素系界面活性剤4よりも高かった。しかし、抗原の濃度が1mg/mlの被検溶液を用いて同様に測定信号を得たところ、PVAを用いた場合には34(arbitrary unit)であったのに対して、化1で示すフッ素系界面活性剤4を用いた場合には64(arbitrary unit)であった。即ち、被検溶液中の抗原濃度に依存する測定信号値は化1で示すフッ素系界面活性剤4の方が著しく高いことが分る。したがって、非特異吸着に起因するノイズの割合を相対的に大幅に低下させることができ、測定の高感度化を達成できる。

【0019】尚、フッ素系界面活性剤4としては、化1で示されるものに限らず、 RCOOX 、 RSO_3X 、

(R SO_3), Yの化学構造を有するフッ素系界面活性剤であることが好ましい。但し、Rは $\text{C}_3\text{H}_7 \sim \text{C}_{18}\text{H}_{37}$ の炭化水素鎖中の少なくとも1個のH原子をF原子で置換したものであり、XはH、 NH_4 、Li、Na、K、Rb、Cs、 NH_4 、 R^-OH (ここで R^- は $\text{CH}_2 \sim \text{C}_{10}\text{H}_{20}$) から選択されたものであり、YはMg、Zn、Mn、Cu、Co、Ca、Pb、Baから選択されたものである。また、反応槽2に注入されるフッ素系界面活性剤溶液の濃度としては、0.005～1%程度の範囲であることが好ましい。

【0020】以上には、フッ素系界面活性剤4のみをスラブ型光導波路1の表面に吸着させた場合についての説明したが、アルブミン、ゼラチン等のタンパク質との混合溶液にして反応槽2に注入してもよく、この場合には、比較的大きな領域にタンパク質が吸着され、残余の領域にフッ素系界面活性剤が吸着されることになるので、タンパク質のみを免疫アッセイ用ブロッキング剤として用いた場合と比較して非特異吸着阻止効果を高めることができる。

【0021】

【発明の効果】以上のように請求項1の発明は、十分な非特異吸着排除効果を達成できるとともに、免疫測定信 *

* 号を大きくでき、この結果、非特異吸着に起因する測定誤差を十分に小さくできるとともに、免疫測定信号に対する迷光等の割合を十分に小さくでき、ひいては高感度の免疫測定を達成できるという特有の効果奏する。

【0022】請求項2の発明は、スラブ型光導波路の少なくとも一面に吸着された、フッ素系界面活性剤を含有する免疫アッセイ用ブロッキング剤により被検溶液中の抗原または抗体の非特異吸着、標識物質の非特異吸着を十分に排除でき、非特異吸着に起因してスラブ型光導波路の表面近傍に拘束される標識物質の量を十分に低減して、非特異吸着に起因する測定誤差を十分に小さくでき、さらに、免疫測定信号光強度を大きくでき、免疫測定信号光に対する迷光等の割合を十分に小さくでき、ひいては高感度の免疫測定を達成できるという特有の効果奏する。

【図面の簡単な説明】

【図1】この発明の免疫測定装置の一実施例を示す概略縦断面図である。

【符号の説明】

- 20 1 スラブ型光導波路 2 反応槽 3 a 抗体
3 b 抗原 4 フッ素系界面活性剤

【図1】

